



TITLE:

Mitochondrial dysfunction under
proteasome inhibition, and its protection by
antioxidants(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Sunita, Maharjan

CITATION:

Sunita, Maharjan. Mitochondrial dysfunction under proteasome inhibition, and its protection by antioxidants. 京都大学, 2016, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19764>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は2017-03-22に公開

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	Sunita Maharjan
論文題目	Mitochondrial dysfunction under proteasome inhibition, and its protection by antioxidants （プロテアソーム阻害下でのミトコンドリア障害とその抗酸化剤による抑制）		
（論文内容の要旨）			
<p>老化に伴うプロテアソーム活性低下、ミトコンドリア機能障害及び活性酸素種(ROS)の産生は、いずれも神経細胞死を引き起こすことから、神経変性疾患発症の一因と考えられている。しかし、これらの事象が起こる順序や作用機序についてはこれまで不明な点が多かった。本論文では、プロテアソーム阻害時の細胞内レドックス変化に着目し、哺乳類培養細胞を用いた生化学及び細胞生物学的アプローチにより、細胞内障害に関する時空間解析を行った。その結果、プロテアソーム阻害に伴って生じる細胞内障害の機序を明らかにすることに成功した。その主な内容は以下の通りである。</p>			
<p>1. プロテアソーム阻害剤の添加やポリユビキチン化反応を阻害することにより、ユビキチン - プロテアソーム系によるタンパク質分解を阻害し、その時のレドックス状態を蛍光レドックスプローブ Redoxfluor により解析した。その結果、プロテアソーム阻害に伴ってサイトゾルが酸化的になることがわかった。</p>			
<p>2. 別の蛍光レドックスプローブ roGFP を用いて、プロテアソーム阻害条件下でのレドックス状態を追跡することで、ミトコンドリアが先に酸化的になり、遅れてサイトゾルが酸化されることを明らかにした。また、ミトコンドリア及びサイトゾルにおける局所的酸化が、それぞれの部位におけるポリユビキチンタンパク質の蓄積と同じ時間経過で起こることを明らかにした。</p>			
<p>3. 食品に含まれる抗酸化物質であるレスベラトロールとセサミンが、ミトコンドリア酸化を抑制することで、プロテアソーム阻害条件下におけるサイトゾルのレドックス状態を正常に保ち、細胞死を抑制することを明らかにした。</p>			
<p>4. ミトコンドリア特異的な抗酸化剤の添加やミトコンドリアに局在する抗酸化酵素 MnSOD2 の過剰発現は、プロテアソーム阻害に伴うミトコンドリア障害を介したサイトゾル酸化及び細胞死を抑制する一方で、サイトゾルに局在する抗酸化酵素 SOD1 の過剰発現はプロテアソーム阻害に伴うサイトゾル酸化及び細胞死を抑制できないことを明らかにした。</p>			

5. Redoxfluor を用いて、プロテアソーム阻害に伴うミトコンドリア障害を介したサイトゾル酸化を抑制できる食品由来の抗酸化剤のスクリーニングを実施し、効果を示した抗酸化剤がいずれも抗酸化遺伝子の誘導ではなく、発生した ROS を直接消去することで、プロテアソーム阻害に伴うサイトゾル酸化を抑制していることを明らかにした。
6. プロテアソーム阻害下において、ミトコンドリア電子伝達系酵素の酵素活性が低下していることを明らかにした。
7. プロテアソーム阻害により蓄積したポリユビキチン化タンパク質が、ミトコンドリア外膜に局在してミトコンドリアへのタンパク質の輸送に関わる TOM 複合体の一つ、TOM40 に蓄積し、ミトコンドリアへのタンパク質輸送活性を阻害することを示した。
8. プロテアソームにおける分解に先立ちミトコンドリア外膜からポリユビキチン化タンパク質を ATP 依存的に引き出す AAA family タンパク質 p97 の阻害剤を添加すると、プロテアソーム阻害の場合と同様に、TOM40 におけるユビキチン化タンパク質の蓄積を引き起こすことでミトコンドリアへのタンパク質輸送を阻害し、ミトコンドリアにおける ROS 産生を増加させることを示した。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、哺乳類培養細胞においてプロテアソーム阻害作用の一次的な作用点がミトコンドリアであることを初めて示し、さらに生化学的ならびに細胞生物学的アプローチにより、プロテアソーム阻害によるミトコンドリア障害の機序と食品由来の抗酸化剤によるその抑制の機序を解明したものである。評価すべき点は以下の点である。

1. プロテアソーム阻害は、ミトコンドリア障害を介して酸化ストレスを惹起し、最終的に細胞死を引き起こすことを示した。
2. ミトコンドリアに対する抗酸化処置がミトコンドリアを正常なレドックス状態に維持することに加え、サイトゾルにおけるレドックス状態も正常に維持し、細胞死を抑制できることを示した。
3. 蛍光タンパク質プローブを利用した細胞レベルでの探索が、ミトコンドリア障害を介した細胞内酸化を抑制する化合物の同定に有効なことを実証した。
4. ポリユビキチン化タンパク質の蓄積がミトコンドリアにおける ROS 産生を引き起こす機序を明らかにした。

以上のように、本論文は、プロテアソーム阻害による異常タンパク質の蓄積がミトコンドリア障害を引き起こす機序を初めて示し、食品由来の抗酸化剤がミトコンドリアで産生された ROS を消去することで酸化ストレス及び細胞死を抑制できることを示したものである。これらの成果は、細胞内タンパク質品質管理機構の破綻がオルガネラ障害を引き起こす機序を明らかにし、老化やこれに関連した疾患の発症機構やその予防に新しい知見を提供するものであり、生化学、細胞生物学、食品化学の分野に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成28年2月4日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）